

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平5-207864

(43) 公開日 平成5年(1993)8月20日

(51) Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 2 3 L 1/272				
A 2 3 B 4/023				
A 2 3 L 1/325		D 7236-4B		
		A 7236-4B		
		9282-4B		
			A 2 3 B 4/02	A
			審査請求 未請求 請求項の数3(全 5 頁)	最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平4-14230

(22) 出願日 平成4年(1992)1月29日

(71) 出願人 000000066

味の素株式会社

東京都中央区京橋1丁目15番1号

(72) 発明者 脊黒 勝也

神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の

素株式会社食品総合研究所内

(72) 発明者 本木 正雄

神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の

素株式会社食品総合研究所内

(72) 発明者 土屋 隆英

東京都渋谷区代官山町17-23

(54) 【発明の名称】 食肉色調改質剤

(57) 【要約】

【目的】 本発明の目的は食肉の色調改質に現在用いられている亜硝酸塩等の発色剤に代わり得る新規でかつ安全な食肉色調改質剤の提供である。

【構成】 トランスグルタミナーゼを用いることにより、安全かつ効果的に食肉の色調を改質することが可能である。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 トランスグルタミナーゼを含有することを特徴とする食肉色調改質剤。

【請求項2】 請求項1記載の食肉色調改質剤を用いて処理された食肉。

【請求項3】 トランスグルタミナーゼを用いる食肉の色調改質方法。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明はトランスグルタミナーゼを含有する魚肉、畜肉等の食肉の色調改質剤、該改質剤で処理された食肉及びトランスグルタミナーゼによる食肉の色調改質方法に関する。

【0002】

【従来技術】食肉の加工工程中、塩漬処理が肉の熟成（風味付与）、肉色の安定（発色）、肉質の向上（保水性、粘弾力付与）、主な味付け（食塩）の目的で行われている。特にハム、ベーコン、ソーセージ等に使用する畜肉や魚肉の保存性改良の為に塩漬処理が欠かせず、その拙効が肉品質を決めると言われている。その塩漬処理時に食塩のみを用いると肉の色調は暗色になり、消費者のイメージを損ねることから、塩漬処理時には亜硝酸塩又は硝石等の発色剤とアスコルビン酸等の還元剤を併用して処理することが知られている。

【0003】しかし、亜硝酸塩あるいは微生物の作用で硝石より生じた亜硝酸イオンが肉中の二級アミンと化学反応し、発癌性が疑われているニトロソ化合物を生成し易いという問題がある。更には、塩漬処理後、肉中に残存する亜硝酸は200ppm以下に抑えなくてはならず、操作上も煩雑であり、安全性上に問題が残る。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】食肉の色彩改良に於いて発癌性の疑いがあるニトロソ化合物の生成をきたす亜硝酸塩を使用しない、安全性の高い色調改質剤の提供が目的である。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者らは上記課題を解決する為に鋭意検討した結果、トランスグルタミナーゼを用いることにより上記課題を解決することができ、本発明を完成するに至りしめた。即ち、本発明はトランスグルタミナーゼを含有する食肉色調改質剤、該改質剤による処理された食肉及びトランスグルタミナーゼを用いる食肉の色調改質方法である。

【0006】本発明でいうトランスグルタミナーゼとは、タンパク質及びペプチド鎖中のグルタミン残基の $\gamma$ -カルボキシルアミド基と一級アミンとの間でアシル転移反応を触媒する酵素である（Folk et al., *Advances in Enzymology*, 38, 109~191(1973)及びFolk et al., *Advances in Protein Chemistry*, 31, 1~133 (1977)）。この反応は、タンパク質中のリジン残基の $\epsilon$ -

アミノ基も一級アミンとして認識するので、タンパク質分子内及びタンパク質分子間で架橋結合を生成させる。一方、一級アミン以外に反応系内に存在する水が基質となる反応により、脱アミド化反応が進行し、グルタミン残基をグルタミン酸残基に変換することもできる。

【0007】本発明に用いるトランスグルタミナーゼは、動物起源のものでも微生物起源又は植物起源のものでも使用でき、特にその起源が限定されるものではない。例えば、動物起源のものとしては、モルモット肝臓由来のもの（Connellan et al., *Journal of Biological Chemistry*, 246(4), 1093~1098 (1971)）、哺乳動物の臓器、血液に広く分布しているもの（Folk et al., *Advances in Enzymology*, 38, 109~191 (1973)）及びFolk et al., *Advances in Protein Chemistry*, 31, 1~133 (1977)）を挙げることができ、また微生物由来のものとしては、放線菌ストレプトベルチシリウム属（*Streptomyces*）に属する菌の生産するもの（特開昭64-27471）を挙げることができる。更には組み換えDNA技術を駆使して調製したもの（特開平1-300889）も用いることができる。これらのトランスグルタミナーゼのうち、微生物起源、具体的に放線菌ストレプトベルチシリウム起源のトランスグルタミナーゼが容易かつ安価に入手でき、 $Ca^{2+}$ の存在下でも非存在下でも作用するので、実用レベルでは特に望ましい。

【0008】本発明で使用される肉とは食用に供される肉であって、例えば牛肉、豚肉、羊肉、魚肉などをヘモグロビンやミオグロビンをその肉中に含む肉類を挙げることができる。また、ミンチ肉など前記食肉の加工物等も含まれる。

【0009】本発明にかかる食肉色素改質剤はトランスグルタミナーゼを当該食肉色素改質剤1g当り、0.0001~100000ユニット好ましくは0.1~3000ユニット含有させれば良い。また、所望により、トランスグルタミナーゼを活性化し安定化する為に還元剤、例えばグルタチオン、システイン等を添加することができる。更に、マンニトール、シクロデキストリン等の安定化剤、賦型剤を添加してもよい。

【0010】さて、本発明の反応条件であるが、肉に添加するトランスグルタミナーゼの添加量は特に制限されないが、基質となる肉の種類により若干異なる。通常、肉1kg当たり0.0001~1000000単位（U）、好ましくは0.01~10000Uである。また、反応温度又は反応時間も特に制限はないが、通常0~60℃、好ましくは1~40℃で通常10分~60日、好ましくは1時間~30日反応させれば良い。尚、食肉の色調改質条件は上述の条件に限定されるものではない。

【0011】反応終了後、あるいは反応中に肉塊を通常の方法で加工処理して目的とする色調が改質された食肉を得ることができる。例えば、ミンチ肉にするならば肉挽き機に供し、ブロック肉に加工するならば裁断機に供

せば良い。その他、従来通りにケーシング等の加工処理を行えば良く、特に加工処理に限定されるものではない。尚、トランスグルタミナーゼ活性は反応終了後の加工処理工程における加熱、くん蒸処理等で停止できる。

【0012】尚、本発明に於てトランスグルタミナーゼの活性測定は、ベンジルオキシカルボニル-L-グルタミニルグリシンとヒドロキシルアミンを基質として反応を行い、生成したヒドロキサム酸をトリクロロ酢酸存在下で鉄錯体を形成させ、この鉄錯体の525nmでの吸収を測定し、ヒドロキサム酸の量を別途作成した検量線と比較して活性を算出することによって行った。活性は1分間に1μモルのヒドロキサム酸を生成する酵素活性を1Uとする（前掲特開昭64-27471参照）。

【0013】色調改質の効果は、反応条件、例えばトランスグルタミナーゼ添加量、反応時間、反応温度等を変えることにより適宜調整することができる。例えば、基本的に改質される肉色調の効果とトランスグルタミナーゼ添加量との関係は比例している。

【0014】

【実施例】以下、本発明を実施例に従って説明する。

\*20

【0015】実施例1

肉中の色素タンパク質であり、肉の色調に大きな影響を与えるミオグロビン（表中でMbと略す）へのトランスグルタミナーゼの添加効果を25℃で4時間反応させて調べた。表1に示す様に添加量に比例して色調が茶褐色から赤色に変化した。この変化はカツオミオグロビン及びウマミオグロビンの両方に見られ、畜肉、魚肉を問わず起こる事が観察された。尚、図1にウマミオグロビンの可視領域の吸収スペクトルを示したが、茶褐色は503nmに吸収極大を持つメト型ミオグロビン特有の色とスペクトルを示し、これがトランスグルタミナーゼ添加により540と580nmにピークを持つオキシ型ミオグロビン特有の形に変化したことが示唆された。このことより、トランスグルタミナーゼは肉の色調に重要な機能を果たすミオグロビンを赤色のオキシミオグロビンにする効果を持つ事が確認された。この実験結果は本発明のトランスグルタミナーゼを含有する製剤は食肉色素改質効果を充分具備することを証明している。

【0016】

【表1】

Mbの起源	トランスグルタミナーゼ添加量			
	0 U	0.1 U	0.5 U	1.0 U
カツオMb	—	±	+	++
ウマMb	—	+	+++	++++

判定、++++；効果、更に大、++；効果、大、+；効果、中、

±；効果、小、—；効果、無し。

トランスグルタミナーゼ添加量はMb 1mgに対する単位（U）。

【0017】実施例2

同じく肉中の色素タンパク質であり、肉の色調に関与するヘモグロビン（表中でHbと略す）へのトランスグルタミナーゼの添加効果を4℃、48時間処理後調べたところ、表2に示す様にブタヘモグロビンとウシヘモグロビンの両方とも色調がトランスグルタミナーゼを添加することにより茶褐色から赤色に変化した。この変化はブタの方が早く起こり、種により反応性に差がある事が示唆

された。以上より、トランスグルタミナーゼはヘモグロビンも赤色へ変える効果を持つ事が確認された。この実験結果も本発明のトランスグルタミナーゼを含有する製剤は食肉色素改質効果を充分具備することを証明している。

【0018】

【表2】

動物種	トランスグルタミナーゼ添加量			
	0 U	0.1 U	0.5 U	1.0 U
ブタ H	—	+	+++	+++
ウシ H	—	±	+	++

判定、+++：効果、特に大、++：効果、大、+：効果、中、  
±：効果、小、—：効果、無し。

トランスグルタミナーゼ添加量は H b 1 mg に対する単位 (U)。

### 【0019】実施例3

ブタ肉に対するトランスグルタミナーゼ添加の効果調べ、ブタ挽き肉及びブロック肉にトランスグルタミナーゼを混合し、4℃における肉色調の変化を観察した。その結果、表3に示したとおりトランスグルタミナーゼ添加量に比例して色調の改善が認められた。尚、亜硝酸ナトリウムを添加したものを用意して比較したとこ\*

\*ろ、赤色に変化する時間が亜硝酸ナトリウムより短いことがわかった。このことより、トランスグルタミナーゼは肉自身に対しても色調改質効果を持つ事が確認された。

【0020】

【表3】

ブタ肉						
	添加物	レベル0	レベル1	レベル2	レベル3	レベル4
挽き肉	酵素	—	+	+	+	+
	亜硝酸塩	—	+	+	黄土色	黄土色
ブロック肉	酵素	—	ND	+	ND	ND
	亜硝酸塩	—	ND	ND	ND	黄土色

判定、+++：効果、更に大、++：効果、大、+：効果、中、±：効果、小、  
—：効果、無し、黄土色：亜硝酸により変色したまま、ND：未測定。

添加物量、レベル0、酵素：無添加、亜硝酸塩：無添加、  
レベル1、酵素：1000 U/kg、亜硝酸塩、50 ppm  
レベル2、酵素：2000 U/kg、亜硝酸塩、100 ppm  
レベル3、酵素：4000 U/kg、亜硝酸塩、200 ppm  
レベル4、酵素：8000 U/kg、亜硝酸塩、400 ppm

### 【0021】

【本発明の効果】本発明によれば、肉色調の改質が可能であり、亜硝酸塩あるいは硝石を用いずに肉色調の改質が行える為、安全性の優れた食肉を得ることができる。

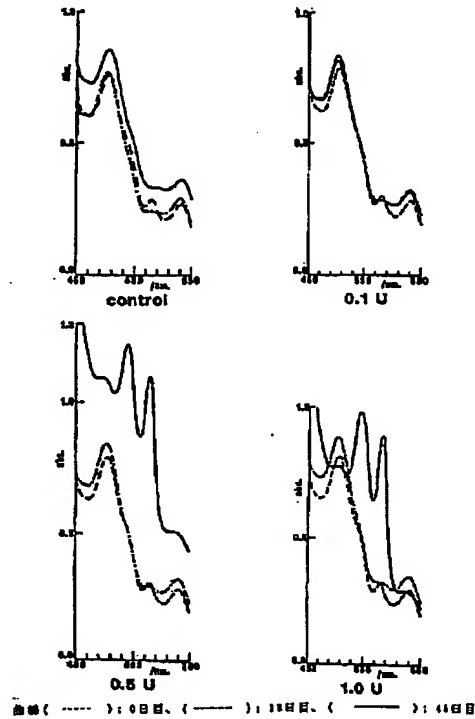
また、亜硝酸塩あるいは硝石の使用量の一部をトランスグルタミナーゼで置き換えることが可能性であり、残存亜硝酸塩あるいは硝石量を減らす事が期待できる。

【図面の簡単な説明】

【図1】ウマミオグロビン溶液(2mg/ml)にトランスグルタミナーゼを添加し(添加量は各吸収曲線の下に記載)、4℃にて反応させた時に観察された可視領域の吸

収曲線の変化である。グラフの横軸は波長、縦軸は吸収である。

【図1】



フロントページの続き

(51) Int. Cl.<sup>5</sup>  
// C12N 9/10

識別記号

庁内整理番号  
7823-4B

FI

技術表示箇所